



***EVALUACION DEL POTENCIAL DE LA PRODUCCION DE BIOGAS A PARTIR
DE VINAZAS EN UN BIODIGESTOR ANAEROBIO***

**YAZMIN LUCERO COBOS BECERRA
RAUL SIERRA ORDOÑEZ**

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
Facultad de Ingenierías Físico-Químicas
Escuela de Ingeniería Química
Bucaramanga, 2007**

***EVALUACION DEL POTENCIAL DE LA PRODUCCION DE BIOGAS A PARTIR
DE VINAZAS EN UN BIODIGESTOR ANAEROBIO***

**YAZMIN LUCERO COBOS BECERRA
RAUL SIERRA ORDOÑEZ**

**Trabajo Presentado como requisito para
Optar el título de Ingeniero Químico**

Director

Ing. Qco., M.Sc., Ph.D. EDGAR FERNANDO CASTILLO MONROY

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
Facultad de Ingenierías Físico-Químicas
Escuela de Ingeniería Química
Bucaramanga, 2007**

*A mis padres y mi hermano
quienes me apoyaron a lo largo de mi carrera.
A Iván René por darme fuerzas y amor incondicional
para cumplir mis metas.*

Lucero Cobos

AGRADECIMIENTOS

Los autores de este trabajo se permiten agradecer a:

- ⇒ Dr. Edgar Fernando Castillo M, director de este proyecto, por su confianza y apoyo.
- ⇒ Ing. Qca., M.Sc. Marisol Vergara, Ing. Qco. Guillermo Acero, Biol. Claudia Sandoval, Ing. Qca. Ligia Patricia Arenas, Ing. Qca. Yaneth Orduz y Qca. Yaneth Quintero, Lucila Vesga, Zulma Moná; por su apoyo y colaboración.
- ⇒ Centro de Estudios e investigaciones Ambientales, CEIAM – UIS, y su personal por su apoyo institucional y financiero.
- ⇒ Técnicos del Laboratorio de Operaciones Unitarias de la Escuela de Ingeniería Química; Eduardo Carreño y Wilson Carreño por su colaboración incondicional.
- ⇒ Escuela de Ingeniería Química por su colaboración con equipos requeridos para la evaluación de datos.
- ⇒ Aydeé Acelas por su paciencia y comprensión.
- ⇒ Todas las personas que de alguna forma estuvieron vinculadas con este proyecto.

TABLA DE CONTENIDO

	Pág.
INTRODUCCIÓN	1
1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y ANTECEDENTES	3
2. GENERALIDADES SOBRE EL TRATAMIENTO ANAEROBIO DE RESIDUOS LÍQUIDOS	7
2.1 <i>Composición y Uso de las Vinazas</i>	7
2.2 <i>Digestión Anaerobia</i>	9
2.3 <i>Etapas de la Digestión Anaerobia</i>	10
2.3.1 Hidrólisis	10
2.3.2 Acidogénesis	11
2.3.3 Acetogénesis	11
2.3.4 Metanogénesis	11
2.4 <i>Factores que influyen en la Digestión Anaerobia</i>	12
2.4.1 Agitación	12
2.4.2 Contenido de Nutrientes	13
2.4.3 pH	13
2.4.4 Temperatura	13
2.4.5 Tóxicos e Inhibidores	14
2.5 <i>Ventajas de los Procesos Anaerobios</i>	14
2.6 <i>Tecnologías del Tratamiento Anaerobio</i>	15
2.6.1 Reactores de Lecho Expandido	16
2.7 <i>Degradación Anaerobia aplicada a Vinazas</i>	17
3. METODOLOGIA EXPERIMENTAL	18

3.1	<i>Caracterización de Vinazas</i>	19
3.2	<i>Inoculación del soporte para la Biopelícula</i>	20
3.3	<i>Montaje del Sistema de Tratamiento Anaerobio</i>	21
3.4	<i>Evaluación del Sistema</i>	23
3.5	<i>Evaluación de la Eficiencia del sistema en Rango Mesofílico de Temperatura</i>	24
3.5.1	Determinaciones Analíticas	24
3.6	<i>Evaluación de la Actividad Metanogénica Específica (AME) en el Reactor de Lecho Expandido</i>	25
4.	ANÁLISIS DE RESULTADOS	26
5.	CONCLUSIONES	33
6.	RECOMENDACIONES	34
7.	BIBLIOGRAFÍA	35
	ANEXOS	38

Lista de Tablas

		<i>Pág.</i>
Tabla 1.	Características Fisicoquímicas de la Vinaza	8
Tabla 2.	Ventajas y Desventajas de los Reactores de Lecho Expandido	16
Tabla 3.	Parámetros Fisicoquímicos de la Vinaza	19
Tabla 4.	Características del Soporte para la Biopelícula	20
Tabla 5.	Descripción de las dimensiones del reactor anaerobio de Lecho Expandido	22
Tabla 6.	Parámetros de operación del sistema	24
Tabla 7.	Parámetros evaluados en el sistema	24
Tabla 8.	Actividad Metanogénica Específica (AME). Etapa Mesofílica	30
Tabla 9.	Recuentos Microbiológicos	31
Tabla 10.	Parámetros Obtenidos	32
Tabla B1.	Factores de conversión de g DQO a ml CH ₄ ; a diferentes Temperaturas y 1 atm de Presión.	IV
Tabla B2.	Actividad Metanogénica Específica. Etapa Mesofílica	V
Tabla C1.	Condiciones de incubación de las muestras obtenidas del sistema	VII

Lista de Figuras

		<i>Pág.</i>
Figura 1.	Etapas de la degradación anaerobia	10
Figura 2.	Etapas de desarrollo del proyecto	18
Figura 3.	Reactor de aclimatación de inóculo y formación de Biopelícula	20
Figura 4.	Esquema del sistema de tratamiento anaerobio de vinazas	21
Figura 5.	Sistema de tratamiento anaerobio de lecho expandido para vinazas. Escala Piloto Laboratorio	23
Figura A1.	Pasos de formación de Biopelícula	II
Figura A2.	Gránulos de antracita colonizada, vistos al microscopio (objetivo 5x)	II
Figura C1.	Cámara de Anaerobiosis	VII
Figura C2.	Técnica de Placa Profunda	VII

Lista de Gráficos

		<i>Pág.</i>
Gráfico 1.	Termograma de la Vinaza	19
Gráfico 2.	Variación de la Demanda Química de Oxígeno (DQO) y Sólidos Suspendidos Totales (SST) en el efluente del reactor con el tiempo	26
Gráfico 3.	Variación del Porcentaje de Remoción de Materia Orgánica con el tiempo	27
Gráfico 4.	Comportamiento de los Ácidos Grasos Volátiles (AGV) y Alcalinidad con el tiempo	28
Gráfico 5.	Variación del pH en el reactor con el tiempo	28
Gráfico 6.	Variación de la composición del Biogás producido con el tiempo	29
Gráfico 7.	Comportamiento del H ₂ S en el Biogás	29
Gráfico 8.	Producción de CH ₄ en el tiempo	30
Gráfico B1.	Determinación de la Pendiente para AME	IV

Lista de Anexos

		<i>Pág.</i>
Anexo A.	Formación de la Biopelícula sobre el soporte → Antracita	<i>I</i>
Anexo B.	Determinación de la Actividad Metanogénica Específica (AME)	<i>III</i>
Anexo C.	Recuentos Microbiológicos	<i>VI</i>
Anexo D.	Determinación de la Demanda Química de Oxígeno (DQO)	<i>VIII</i>
Anexo E.	Determinación de los Ácidos Grasos Volátiles (AGV) y Alcalinidad	<i>XI</i>

RESUMEN

TÍTULO

*EVALUACION DEL POTENCIAL DE LA PRODUCCION DE BIOGAS A PARTIR DE VINAZAS EN UN BIODIGESTOR ANAEROBIO*¹

AUTORES

COBOS BECERRA, Yazmín Lucero; SIERRA ORDOÑEZ, Raúl. **

Palabras Claves:

Biodigestor, Digestión Anaerobia, Lecho Expandido, Antracita.

En este trabajo se presenta la evaluación de la producción de biogás a partir de vinazas en un biodigestor anaerobio de lecho expandido, en el cual se utilizó antracita como soporte para la biopelícula. Se tuvieron en cuenta parámetros operacionales tales como el tiempo de retención hidráulica, pH, Temperatura, Demanda Química de Oxígeno (DQO) del efluente e influente, porcentaje de remoción de carga orgánica, Sólidos Suspendidos Totales (SST), composición y cantidad del biogás producido y Actividad Metanogénica Específica (AME).

La experimentación fue desarrollada en dos etapas; la primera de ellas, “etapa de estabilización”, en la cual se inoculó el reactor de lecho expandido con la antracita (previamente inoculada y estabilizada). En esta etapa se evaluó el porcentaje de remoción de materia orgánica y la calidad del biogás producido; ésta tuvo una duración de 60 días. En la segunda etapa; “etapa mesofílica”, además de los parámetros establecidos para la primera etapa, se evaluó la AME en el reactor para ser comparada con la cantidad de biogás producida y los Sólidos Suspendidos Volátiles (SSV); esta etapa duró 30 días. En las dos etapas se operó con Tiempo de Retención Hidráulica (TRH) de un (1) día.

Los resultados obtenidos evidencian la factibilidad del tratamiento anaerobio de vinazas en un reactor de lecho expandido, debido a que se alcanza un porcentaje de remoción de la carga orgánica del 73%, un porcentaje de remoción de SST de 58% y un 72% de CH₄ en el biogás producido a un pH de 7.67 y temperatura de 40°C, además se observó que la AME (etapa mesofílica), creció gradualmente a medida que la producción de biogás aumentaba; al final de la experimentación se obtuvo una AME de 0.1824 gDQO/gSSV-día; además de lo descrito anteriormente, se observó que el biogás producido contiene una cantidad considerable de H₂S (>50 ppm).

¹ Trabajo de Grado

** Facultad de Ingenierías Físico-químicas, Escuela de Ingeniería Química, Director: Ph.D. Edgar Castillo M.

SUMMARY

TITLE

*EVALUATION OF BIOGAS POTENCIAL PRODUCTION FROM VINASSES IN AN ANAEROBIC BIOREACTOR.*²

AUTHORS

*COBOS BECERRA, Yazmín Lucero; SIERRA ORDOÑEZ, Raul ***

Key Words:

Bioreactor, Anaerobic Digestion, Expanded Bed, Anthracite.

In this work appears the evaluation of the biogas production from vinasses in an anaerobic expanded bed bioreactor, in which anthracite was used like support for biofilm. Operational parameters considered such as the Hydraulic Retention Time (HRT), pH, Temperature, Chemical Oxygen Demand (COD) of the effluent and influent, percentage of organic load removal, Total Suspended Solids (TSS), composition and amount of biogas produced and Specific Methanogenic Activity (SME).

The experimentation was developed in two stages; first of them, "stabilization stage", in which the expanded bed reactor was inoculated with the anthracite (previously inoculated and stabilized). In this stage was evaluated the percentage of organic load removal and the biogas quality produced; this one lasted 60 days. In the second stage; "mesophilic stage", in addition to the parameters established for the first stage, was evaluated the SME in the reactor to be compared with the amount of biogas produced and the Volatile Suspended Solid (VSS); this stage lasted 30 days. In the two stages the Hydraulic Retention Time (HRT) was one (1) day.

The obtained results demonstrate the feasibility of the anaerobic treatment of vinasses in an expanded bed reactor, because it is reached a percentage of organic load of 73%, a percentage of TSS removal of 58% and a 72% of CH₄ in biogas produced to pH of 7,67 and temperature of 40°C; in addition, it was observed that SME (mesophilic stage), grew gradually as biogas production; at the end of the experimentation was obtained a SME of 0,1824 gCOD/gVSS-day; besides it was observed that the biogas produced contains a considerable amount of H₂S (>50 ppm).

² Graduation Project

** Physical-Chemical Engineering Faculty. Chemical Engineering School. Director: Ph D. Edgar Castillo M.

INTRODUCCIÓN

En Colombia, la producción y comercialización de alcohol etílico y licores destilados es la principal fuente de ingresos de algunos departamentos, con ventas superiores a los 500 mil millones de pesos anuales (Mena y Serrato, 2000). El residuo producido por la industria alcoholera que más impacto ambiental genera es “*la vinaza*”, responsable de casi el 70% de la contaminación ocasionada por las destilerías (45% del flujo total, 92% de la DQO y 95% de sólidos totales). Esta corresponde al residuo líquido que produce la destilación del mosto fermentado; se obtiene en grandes volúmenes, con una alta concentración de materia orgánica expresada como DQO (Demanda Química de Oxígeno) que varía entre 60000 – 120000 mg/L, además altas concentraciones de potasio y sulfatos, y temperaturas de descarga que oscilan entre los 80 – 100°C. Las características de la vinaza se ven influenciadas por la naturaleza y composición química del sustrato usado en la fermentación alcohólica; por ejemplo, la vinaza de melaza de caña, contiene altas concentraciones de sulfato, precursor del H₂S; a diferencia de las vinazas de remolacha que contienen aminoácidos, precursores del amoníaco.

La capacidad de las plantas productoras de alcohol etílico varía entre 100000 – 300000 L/día, lo cual representa una producción diaria por planta de 1250000 – 3750000 L de vinaza. Si bien es cierto, que el impacto ambiental causado por las vinazas es alto, puede considerarse que tienen un gran valor como fertilizantes por su contenido de sales de nitrógeno, potasio y otros componentes útiles para el suelo. Estas características de la vinaza siempre han sido reconocidas, por lo cual se ha tratado de darles un uso posterior en lugar de su simple vertimiento.

Durante varias décadas se han realizado diversos estudios que han pretendido brindar soluciones al “*problema*” de las vinazas y se han hecho ciertos avances en este tema, desde emplear este residuo como fertilizante para los terrenos cercanos a

la planta de producción de alcohol, con un tratamiento previo que puede ser fisicoquímico (evaporación, concentración y recirculación) o biológico (Duran et al, 1991); calcinación para obtener CaCO_3 hasta emplear biodigestores aerobios y/o anaerobios, cuyo principal objetivo es la disminución de la elevada carga orgánica contenida en estos residuos.

A partir de investigaciones hechas sobre la aplicabilidad de la biotecnología al tratamiento de residuos con elevada DQO (urbanos e industriales) se han podido extrapolar ciertos resultados de considerable importancia; por un lado se tienen los procesos aerobios a través de los cuales se logra una alta remoción del contenido orgánico en la fuente, pero presenta la formación y acumulación de lodos, los cuales requieren de un tratamiento de secado que implica unidades adicionales al proceso. En contraparte, están los procesos anaerobios que si bien la eficiencia en la remoción de DQO no es tan alta como en sus análogos (70 – 80%) cuentan con una escasa producción de lodos, y además, presenta la formación de un gas compuesto principalmente por CH_4 y CO_2 (Biogás); éste último es el gran atractivo de los digestores anaerobios, ya que representa la obtención de una fuente alternativa de energía que puede ser aprovechada por la misma industria.

Con base en lo anterior, en este trabajo se evalúa el potencial de la producción de biogás a partir de vinazas, en un biodigestor anaerobio de película adherida; que además de presentar los beneficios de los procesos biotecnológicos en ambientes libres de oxígeno (anóxicos), presenta la obtención de una fuente alternativa de energía, con un bajo tiempo de retención hidráulica.

El presente trabajo se encuentra dividido en cuatro capítulos. El primero contiene los aspectos actuales del tratamiento de vinazas y sus antecedentes. El segundo presenta las generalidades del tratamiento anaerobio de residuos líquidos. En el tercer capítulo se evidencia la metodología llevada a cabo durante la experimentación, con sus respectivas etapas y en el último capítulo se analizan los resultados obtenidos de la operación del sistema de tratamiento anaerobio de biopelícula adherida.

1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y ANTECEDENTES

La vinaza es un residuo industrial del proceso de la destilación alcohólica, el volumen producido de ésta es elevado, ya que por cada litro de alcohol obtenido se producen en promedio 12 - 14 litros de vinaza. Debido a su alto contenido de materia orgánica, éste residuo presenta una elevada demanda química de oxígeno (DQO), además posee un pH muy bajo (4 - 4.5) y una temperatura muy elevada (80 - 95°C), lo que la convierte en un agente muy contaminante del medio ambiente, que si es descargado directamente a cuerpos de agua causaría una alteración irreversible de los ecosistemas acuáticos. Según la Legislación Colombiana, mediante el Decreto 1594 de 1984, artículo 72, se resalta que los vertimientos a cuerpos de agua de residuos líquidos deben tener las siguientes características, pH entre 5 y 9 unidades, temperatura menor a 40°C y ausencia de sólidos suspendidos, además para las industrias que utilicen directa o indirectamente los ríos o fuentes de agua para el vertimiento de residuos deberán sujetarse al pago de tasas retributivas según lo especificado en el Artículo 142 del Decreto 1594 y según los Decretos 901 de 1997 y 3440 de 2004.

El tratamiento de un residuo tan contaminante como la vinaza es muy importante para la conservación del medio ambiente, es así, que mediante digestión anaerobia, que es uno de los mecanismos más frecuentemente usados por la naturaleza para degradar las sustancias orgánicas, es una alternativa muy interesante para abordar. De hecho, esta degradación se produce en diversos ambientes ya sean naturales o bien controlados como los digestores anaerobios. Este proceso biológico se basa en la transformación, a través de una serie de reacciones bioquímicas, de la materia contaminante en un gas cuyos componentes principales son el metano (CH₄) y dióxido de Carbono (CO₂), el cual puede ser recogido y usado como combustible. De esta forma la digestión anaerobia, como método de tratamiento de residuos permite

disminuir la cantidad de materia contaminante y, al mismo tiempo producir energía. (Chamy, 2003).

En Colombia, actualmente se están llevando a cabo proyectos con los que se busca introducir combustibles renovables en la canasta nacional. Desde el año 1995, en la Resolución No. 898 del 23 de agosto, el Ministerio del Ambiente introdujo la especificación del oxígeno en las gasolinas, seguidamente la ley 693 del 2001, implantó el uso del etanol de la biomasa en las gasolinas que se utilizan en las principales ciudades del país (Campuzano, 2004). Con los proyectos en marcha, para abastecer la gran demanda de etanol que tendrá el país se pretende hacer un mejor uso de los recursos naturales renovables, generando un amplio estímulo al desarrollo del campo y reduciendo las emisiones de gases de invernadero. Por otro lado, con la creciente demanda de etanol que se avecina, también se incrementará la producción de vinaza enormemente, es debido a esto que deben implementar tecnologías de tratamiento de dicho residuo el cual se puede transformar en un fertilizante que se aplica en las mismas plantaciones (caña de azúcar, papa, yuca y maíz, de donde se obtiene el etanol) y produciendo biogás, que puede ser utilizado para la generación de energía; todo lo anterior con el fin de contribuir a la economía del proceso.

El tratamiento biológico de las vinazas ha abarcado sistemas tanto aerobios como anaerobios, en donde se ha encontrado que los primeros tienen la capacidad de remover la carga orgánica de los residuos tratados produciendo una gran cantidad de biomasa que genera un problema adicional de contaminación; ya que se debe disponer no solo de un sistema de tratamiento de las vinazas, sino también para la disposición final de los lodos; debido a esto se incrementan los costos de implementación de sistemas de este tipo (Chamy, 2003). Por otro lado, la utilización de tratamientos anaerobios ha demostrado ser una gran alternativa muy satisfactoria para el tratamiento de efluentes que contienen altas cargas orgánicas, tal como la vinaza y sin producción de lodos, a diferencia de los tratamientos mencionadas anteriormente.

Entre los sistemas de tratamiento anaerobio se pueden encontrar diferentes configuraciones de digestores anaerobios y combinaciones entre éstos con el fin de lograr una alta eficiencia en la remoción de la carga orgánica del efluente tratado, entre ellos se pueden citar: reactores del tipo UASB (Upflow Anaerobic Sludge Blanket), los cuales permiten tratar grandes cantidades de vinaza pero implican altos tiempos de retención hidráulica (TRH). También se han utilizado reactores de lecho fijo en los cuales la biomasa se fija en un soporte estacionario dentro del reactor y el residuo tratado pasa a través de éste, en contraparte a éste tipo de reactores están los de lecho fluidizado en el cual la biomasa también está adherida a un soporte constituido por pequeñas partículas, pero a diferencia del anterior el lecho está en constante movimiento; en la literatura se pueden encontrar reportes de los tipos de soportes usados en esta clase de reactores, tales como piedra pómez, zeolita, carbón activado, SIRAN (esferas de vidrio sinterizado), perlita, arena y biolita entre otros. Estos están caracterizados principalmente por ser partículas de tamaño muy pequeño y por ser muy porosas para que puedan ser colonizadas fácilmente por las bacterias y así permitir la formación de la biopelícula; una de las ventajas de esta clase de reactores es que presentan una buena eficiencia de remoción de la carga orgánica, que está entre el 80 – 90% (Pérez et al, 1998; Pérez et al., 2001; Fernández et al., 2001; Balaguer et al., 1997). Además de los sistemas de tratamiento anaerobio mencionados, se pueden encontrar combinaciones tales como el reactor SCFBR (Reactor de lodos y Lecho Fijo), el cual es un reactor híbrido de flujo ascendente que combina una sección en condiciones similares a las de un UASB, seguida de una sección empacada con forma de filtro anaerobio (Mena y Serrato, 2000), o pueden utilizarse sistemas donde el tratamiento anaerobio es realizado por etapas (Blonskaja et al, 2003).

Debido a esto se busca una alternativa de tratamiento para un residuo tan contaminante, como la vinaza, y por otro lado también surge la posibilidad del aprovechamiento de biogás como fuente alterna para la generación de energía, como lo es el biogás producido en la biodegradación de las mismas. Además de que este residuo es tratado para reducir su carga contaminante; cabe la posibilidad de

aprovechar un subproducto de su degradación y finalmente hacer una disposición adecuada de éste, teniendo en cuenta estas ventajas; esta es una alternativa muy atractiva pues el proceso de tratamiento puede llegar a ser auto-sostenible.

Por medio este trabajo, se busca determinar las condiciones de operación para un sistema biológico de película adherida, que hagan eficiente el proceso de metanización que ocurre sobre la carga orgánica presente en las vinazas; mediante la evaluación de la disminución de la elevada carga que caracteriza este tipo de residuo, así como la evaluación de la producción de biogás comparada con la actividad metanogénica específica en el biodigestor anaerobio.

2. GENERALIDADES SOBRE EL TRATAMIENTO ANAEROBIO DE RESIDUOS LIQUIDOS

El tratamiento biológico anaerobio de residuos líquidos supone la remoción de contaminantes mediante actividad biológica. Dicha actividad se aprovecha para la remoción de sustancias orgánicas biodegradables, coloidales o disueltas, contenidas en el residuo, mediante su conversión en biomasa fácilmente sedimentable y en gases que escapan a la atmósfera. Los microorganismos involucrados en el tratamiento biológico de residuos líquidos se encargan de la estabilización de la materia orgánica a través de procesos de oxidación-reducción con el fin de obtener energía para crecimiento y mantenimiento celular (Romero, 2000).

2.1 Composición y uso de las Vinazas

La vinaza es un residuo industrial del proceso de la destilación alcohólica que posee características propias, que lo convierten en un agente muy contaminante del medio ambiente; incrementan la temperatura del cuerpo receptor de agua cuando son vertidas y disminuyen la cantidad de oxígeno disuelto disponible; cuando no son neutralizadas pueden disolver algunos metales. Ésta contiene materia orgánica abundante que incluye una cantidad considerable de fenoles y sus polímeros, los cuales son difíciles de degradar biológicamente y poseen propiedades antimicrobianas y fitotóxicas que impiden el tratamiento eficiente por degradación microbiológica, especialmente aerobia. (Ver tabla 1).

Tabla 1. Características físico-químicas de la vinaza

CARACTERISTICAS	PROMEDIOS
Temperatura °C	78.0 - 82.0
pH	3.7 - 4.5
Sólidos totales %p/p	9 - 12
DQO mg/l	80000 - 110000
DBO ₅ mg/l	45000 - 50000
Cloruros mg/l	5000 - 6000
Sulfatos mg/l	4000 - 8000
Sodio mg/l	400 - 600
Potasio mg/l	8000 - 12000
Nitrógeno total mg/l	1000 - 1200
Fósforo mg/l	200 - 300
Calcio mg/l	2000 - 3500

Fuente: Nimbalkar, D. Vasantdada Sugar Institute, Pune, India. 2005.

El empleo de las vinazas se ha diversificado tratando de encontrar la mejor opción garantizando la favorabilidad ambiental. La alta riqueza en minerales ha permitido llevar a cabo pruebas usando a las vinazas como complementos o enmiendas al suelo ya que cuentan con uno de los elementos fertilizantes más importantes, el potasio, en el cultivo de la caña de azúcar. A pesar de obtenerse mejoras en sus rendimientos, su uso ha estado limitado al tipo de suelo y, debido al bajo pH se limita su empleo a cantidades relativamente bajas que, comparadas con los grandes volúmenes que se producen diariamente implica la necesidad de buscar otros usos.

La degradación anaerobia de este tipo de residuo es el resultado del efecto de comunidades bacterianas que degradan los diferentes compuestos, generando un efluente que contiene una DQO más baja y grandes cantidades de nutrientes que son útiles para utilizarlo como complemento o enmienda de suelos y biogás compuesto principalmente por metano (CH₄), dióxido de carbono (CO₂) y, en menor cantidad, ácido sulfhídrico (H₂S). (Castro-González et al., 2004).

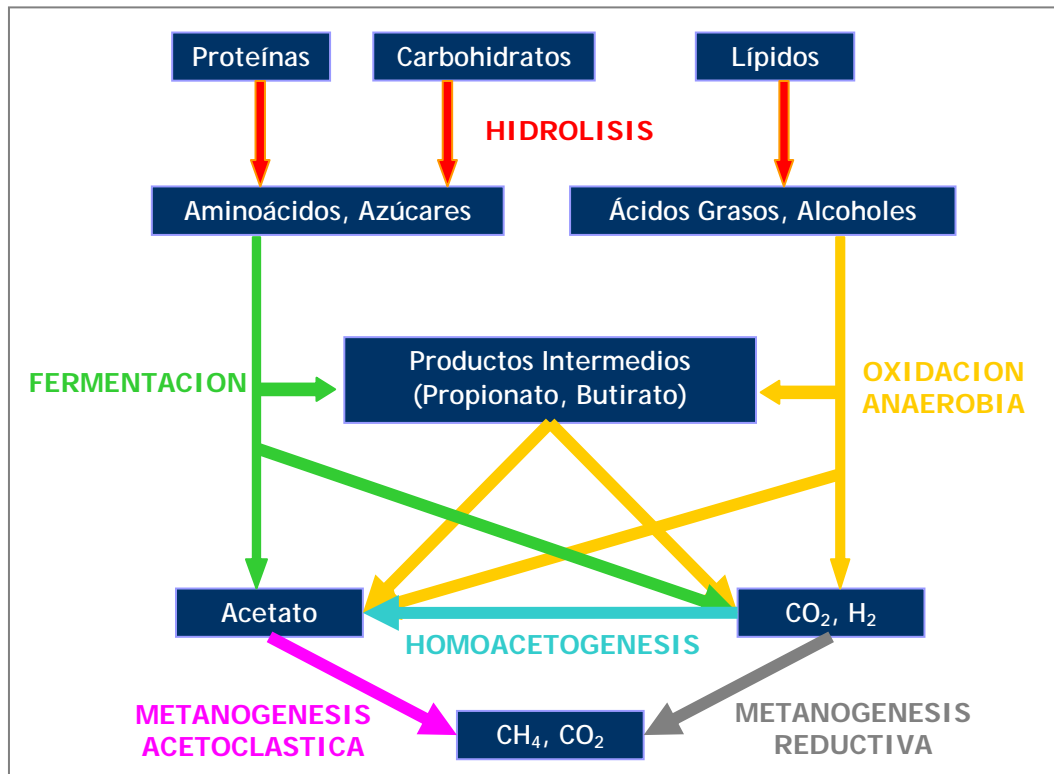
2.2 Digestión Anaerobia

La degradación o digestión anaerobia (DA) es un proceso biológico natural en el que una comunidad entrelazada de bacterias cooperan para formar una fermentación estable, autorregulada, que convierte materia orgánica residual en una mezcla de metano (CH_4) y dióxido de carbono (CO_2) (Mussati et al., 1999). Los residuos a tratar serán los aportantes del carbono y la energía de los procesos biológicos. El control de los procesos depende de la naturaleza de estos compuestos carbonados. En forma general, sin importar las características parametrizadas del sustrato, toda degradación anaerobia se presentará bajo las mismas etapas: hidrólisis, acidogénesis, acetogénesis, y metanogénesis.

La digestión anaerobia ha sido descrita como un proceso de múltiples fases o subprocesos donde se llevan a cabo un grupo de reacciones en serie y en paralelo de las cuales se han identificado siete etapas microbiológicas (Pavlostathis, 1991), como se muestra en la figura 1.

1. Hidrólisis del material orgánico particulado (carbohidratos, proteínas y lípidos).
2. Fermentación o acidogénesis de aminoácidos y azúcares.
3. Oxidación anaerobia o acetogénesis de ácidos grasos de cadena larga y alcoholes.
4. Oxidación anaerobia o acetogénesis de productos intermedios como ácidos grasos de cadena corta (excepto el ácido acético).
5. Homoacetogénesis.
6. Metanogénesis acetoclástica.
7. Producción de metano por reducción de hidrógeno y de dióxido de carbono.

Figura 1. Etapas de la degradación Anaerobia



Fuente: Señor A, 2005

2.3 Etapas de la Digestión Anaerobia

2.3.1 Hidrólisis. La materia orgánica polimérica no puede ser utilizada directamente por los microorganismos a menos que se hidrolicen en compuestos solubles, que puedan atravesar la membrana celular. La hidrólisis es, por tanto, el primer paso necesario para la degradación anaerobia de sustratos orgánicos complejos. Esta etapa incluye dos procesos, la solubilización del material particulado insoluble y la descomposición biológica de polímeros orgánicos a monómeros o dímeros, los cuales pasan a través de la membrana celular. La etapa hidrolítica puede ser la etapa limitante de la velocidad del proceso global, si el sustrato cuenta con alto contenido en sólidos. Incluso en casos donde las fases acidogénica o metanogénica son consideradas como pasos limitantes, la hidrólisis puede afectar el conjunto del proceso.

2.3.2 Acidogénesis. La acidogénesis es la etapa en donde la materia orgánica disuelta es biodegradada a ácidos grasos volátiles tales como ácido acético, propiónico, butírico, además de hidrógeno, dióxido de carbono y alcoholes por una población bacteriana heterogénea. En esta etapa se encuentran las bacterias acidogénicas consideradas de crecimiento rápido y la reacción preferida por estas es la que conduce a ácido acético. (Mussati et al. 1999)

2.3.3 Acetogénesis. En general existen dos mecanismos diferentes para esta etapa; la acetogénesis de hidrogenación que produce ácido acético como un solo producto final de la fermentación de hexosa o de CO_2 y H_2 , y la acetogénesis de deshidrogenación que es la que normalmente reportan los investigadores. Esta convierte los ácidos grasos de cadena corta y de cadena larga a ácido acético por un grupo de bacterias acetogénicas. Las reacciones que producen son muy complejas energéticamente y se interrumpen fácilmente por acumulación de gas hidrógeno disuelto en el medio. La eliminación continua de H_2 mediante oxidación por CO_2 (bacterias metanogénicas hidrogenotróficas) estimula la acción de las bacterias fermentativas, al eliminar un producto de la reacción.

2.3.4 Metanogénesis. Los microorganismos metanogénicos pueden ser considerados como los más importantes dentro del consorcio de microorganismos anaerobios, ya que son los responsables de la formación de metano y de la eliminación de los productos de etapas anteriores, siendo además, los que dan nombre al proceso general de biometanización.

Las bacterias metanogénicas son las responsables de la formación de metano a partir de sustratos monocarbonados o con dos átomos de carbono unidos por un enlace covalente: acetato, H_2 , CO_2 , metanol y algunas metilaminas. Existen dos grandes grupos de bacterias metanogénicas, las denominadas acetoclásticas y las que utilizan el hidrógeno (hidrogenotróficas). Las bacterias acetoclásticas convierten el ácido acético en dióxido de carbono y metano, estas se desarrollan muy lentamente e

influyen apreciablemente en el pH del sistema por eliminación de ácido acético y formación de dióxido de carbono.

Las bacterias metanogénicas que utilizan hidrógeno (hidrogenotróficas) se desarrollan rápidamente, estas actúan convirtiendo el hidrógeno y el dióxido de carbono a metano. Estas controlan el potencial redox del proceso, las trazas de hidrógeno que quedan en el medio regulan la velocidad total de producción de ácidos por las bacterias acidogénicas y la composición de la mezcla formada. El hidrógeno también controla la velocidad a la cual los ácidos propiónico y butírico son convertidos a ácido acético; en definitiva, regulan la formación de ácidos volátiles.

2.4 Factores que influyen en la Digestión Anaerobia

La digestión anaerobia al igual que cualquier proceso es susceptible a un cierto número de factores que pueden alterar la estabilidad y la eficiencia del mismo, los más importantes se presentan a continuación.

2.4.1 Agitación. La agitación de los reactores anaerobios tiene diversos objetivos, que se resumen en los siguientes puntos (Noone, 1990):

- ★ Poner en contacto el sustrato fresco o influente con la población bacteriana, y eliminar los metabolitos producidos por los metanogénicos, al favorecer la salida de los gases; proporcionar una densidad uniforme de población bacteriana; prevenir la formación de capa superficial y de espumas, así como la sedimentación en el reactor.
- ★ Prevenir la formación de espacios muertos que reducirían el volumen efectivo del reactor, y la formación de caminos preferenciales en función de la hidráulica del sistema.
- ★ Eliminar la estratificación térmica, manteniendo una temperatura uniforme en todo el reactor.

2.4.2 Contenido de Nutrientes. El proceso anaerobio se caracteriza, frente a procesos aerobios, por los bajos requerimientos de nutrientes, debido fundamentalmente a los bajos índices de producción de biomasa. A pesar de ello, la biomasa necesita para su desarrollo el suministro de una serie de nutrientes minerales, además de una fuente de carbono y de energía. Los principales nutrientes del sistema anaerobio son nitrógeno, sulfuro, fósforo, hierro, cobalto, níquel, molibdeno, selenio, riboflavina y vitamina B12. (Speece, 1987).

2.4.3 pH. Los microorganismos anaerobios necesitan un pH en torno a la neutralidad para su correcto desarrollo, aunque permiten cierta oscilación. El pH debe estar en torno a la neutralidad, presentando problemas graves si el pH baja por debajo de 6 o sube por encima de 8,3 (Lay et al., 1997). Sin embargo, el proceso de inhibición parece ser completamente reversible, aunque el tiempo de recuperación depende de la duración de la alteración.

El pH es también una importante variable de diagnóstico de los sistemas anaerobios, pues muchos fenómenos tienen influencia sobre el mismo. Ejemplos clásicos son las sobrecargas orgánicas, o la presencia de un inhibidor de la etapa metanogénica, que pueden provocar desequilibrios entre la producción y el consumo de ácidos grasos volátiles, produciendo la acumulación de éstos y el consiguiente descenso del pH, produciéndose la acidificación del reactor.

2.4.4 Temperatura. El proceso anaerobio se produce en la naturaleza en un amplio rango de temperaturas, que van desde 0° a 97°C (Muñoz-Valero et al., 1987). La eficiencia del proceso, no obstante, es muy diferente en función de la temperatura del medio. Se habla de tres rangos principales de temperatura, psicrófilico (por debajo de 25°C), mesófilico (entre 25 y 45°C) y termófilico (entre 45°C y 65°C), siendo la tasa máxima específica de crecimiento mayor conforme aumenta la temperatura. La velocidad del proceso aumenta con la temperatura, aunque también aumentan los requerimientos energéticos, y puede disminuir la estabilidad del proceso (Fannin, 1987), al menos en presencia de determinados tóxicos.

2.4.5 Tóxicos e inhibidores. Estos son elementos principalmente de naturaleza química que pueden inhibir o disminuir sustancialmente la actividad bacterial, afectando directamente la eficiencia global del proceso. La magnitud de toxicidad observada es una función de diversos factores, incluyendo concentración, antagonismos, sinergismos, formación de complejos y aclimatación (Kugelman y Chin, 1971).

2.5 Ventajas de los procesos anaerobios

En los últimos años se han empezado a utilizar los procesos anaerobios en muchos países para tratar las aguas residuales de los diferentes tipos de industrias, aunque no es un método tradicional ha venido cobrando mucha fuerza a medida que los resultados han mostrado sus bondades. Al hacer una comparación con los tratamientos aerobios se encuentran mayores ventajas que desventajas (McCarty, 1964).

© Ventajas:

- Los tratamientos anaerobios generalmente consumen poca energía. Si en algún punto se requiere energía para elevar la temperatura, ésta puede ser obtenida desde los efluentes por intercambio calorífico.
- La degradación anaerobia es un sistema productor de energía debido a que sus componentes orgánicos producen CH_4 .
- La producción de lodos en los tratamientos anaerobios es considerablemente más baja que la de los métodos aerobios.
- Los sistemas anaerobios modernos pueden manejar altos contenidos de materia orgánica disuelta en el efluente a tratar.
- Un asunto muy importante en los procesos anaerobios es que los lodos anaerobios pueden ser usados aún cuando hayan transcurrido periodos de tiempo prolongados sin alimentación.
- Los costos de inversión son relativamente bajos ya que no requieren de aireadores como los sistemas aerobios. Sin embargo, el lapso de “vida” de los reactores

anaerobios es relativamente menor que el de los aerobios, por lo que se busca usar materiales de construcción apropiados y prestar especial atención al mantenimiento debido a la generación de ácido sulfhídrico y ácido sulfúrico que son muy corrosivo.

© Desventajas:

- Alta sensibilidad de las bacterias metanogénicas a un gran número de componentes químicos. Sin embargo, en ocasiones, se pueden hacer eliminaciones selectivas previas de tal forma que el componente se presente como tóxico/inhibitorio ya no esté presente en el agua residual a tratar.
- El arranque de estas instalaciones es mucho más lento que el de un sistema aerobio debido justamente a la baja eficiencia en el desarrollo de las bacterias.
- Durante el tratamiento se pueden presentar malos olores por la formación de H_2S que en parte va al biogás y otra parte se queda disuelto en el agua residual y, posteriormente, se desorbe y/o transforma en sulfatos.

2.6 Tecnologías del tratamiento Anaerobio.

En los procesos modernos, denominados de alta velocidad, la característica común a todos ellos es la retención de la biomasa dentro del reactor, de manera que el tiempo de retención de los sólidos es mucho mayor que el tiempo de retención hidráulico por lo que se consigue aumentar la eficacia del proceso (Lettinga, *et al.*1983).

La clasificación de los reactores anaerobios de alta velocidad, se puede hacer en función de la manera en la que retienen la biomasa:

- ★ Los que retienen la biomasa en los intersticios de un material de soporte y en la superficie del soporte, como el FA (Filtro Anaerobio)
- ★ Los lechos de lodos UASB (Upflow Anaerobic Sludge Blanket), en los que la biomasa queda retenida por sedimentación en la parte baja del reactor en forma de gránulos o flóculos

- ★ Los que se basan en la inmovilización de la biomasa sobre superficies fijas como en el AFF (Anaerobic Fixed Film), o sobre partículas móviles como en el AAFEB (Anaerobic Attached Film Expanded Bed); los cuales utilizan soportes tales como biolita, sepiolita, carbón activado, arena, anillos raschig, vidrio, espuma de poliuretano, etc.,. (Jewell *et al.*, 1981).

2.6.1 Reactores de Lecho Expandido. El interés en tecnología de lecho expandido, ha crecido junto con el interés en la recuperación de la energía con buena eficiencia y estabilidad del proceso de degradación anaerobia. En el sistema de lecho expandido anaerobio la biomasa es fijada en un medio poroso que se encuentra en continuo movimiento. Por lo tanto, puede ser considerado como un sistema de biomasa completamente mezclado. Con este sistema se consigue que la totalidad de la película bacteriana esté en contacto con el efluente a tratar, aumentando la eficacia del sistema. (Pérez *et al.*, 2001)

Tabla 2. Ventajas y Desventajas de los reactores de Lecho Expandido

VENTAJAS	DESVENTAJAS
<ul style="list-style-type: none"> • La transferencia de masa es muy buena • Se evita la formación de canales y retención de gas en el lecho. • Reactores de volumen más pequeño debido a la elevada carga volumétrica ($\text{Kg}/\text{m}^3 \cdot \text{d}$). • Operación relativamente estable bajo condiciones variables de alimentación. • No necesita agitación mecánica. • El biogás y la recirculación aseguran una temperatura, pH y concentraciones de sustrato uniforme en el reactor. • La necesidad de espacio es relativamente pequeña. 	<ul style="list-style-type: none"> • La puesta en marcha es muy lenta • El gasto de energía para conseguir fluidizar el lecho es alto. • El control del relleno y de la cantidad de biomasa es difícil. • No es adecuado para aguas con alta concentración de Sólidos Suspendidos. • El diseño mecánico es relativamente complejo. • Poca experiencia en plantas a escala real

Fuente: "Biodegradación de Materia Orgánica"
http://www.tecnun.es/asignaturas/cientecmedam/files/4Biod_anaerobia.ppt

2.7 Degradación Anaerobia aplicada a Vinazas

La degradación anaerobia de los efluentes, es una tecnología muy eficiente para remover la carga de las vinazas. Permite remover más de 90% de su DBO (Demanda Bioquímica de Oxígeno), aunque solo unos 70% de su DQO (Demanda Química de Oxígeno), pues una parte de la DQO está en forma “dura” (no biodegradable). Otra característica de la digestión anaerobia, es generar biogás como subproducto. Este biogás de vinazas puede tener altas concentraciones de H₂S (componente corrosivo, tóxico y oloroso) cuando la proporción de melaza es alta en la materia prima, pues la melaza tiene altas concentraciones de sulfatos, provenientes del proceso de sulfitación del jugo, que se reducen a sulfuros en el proceso anaerobio. También puede generar olores, por escapes de biogás no captado, o por descargas del efluente con biogás disuelto.

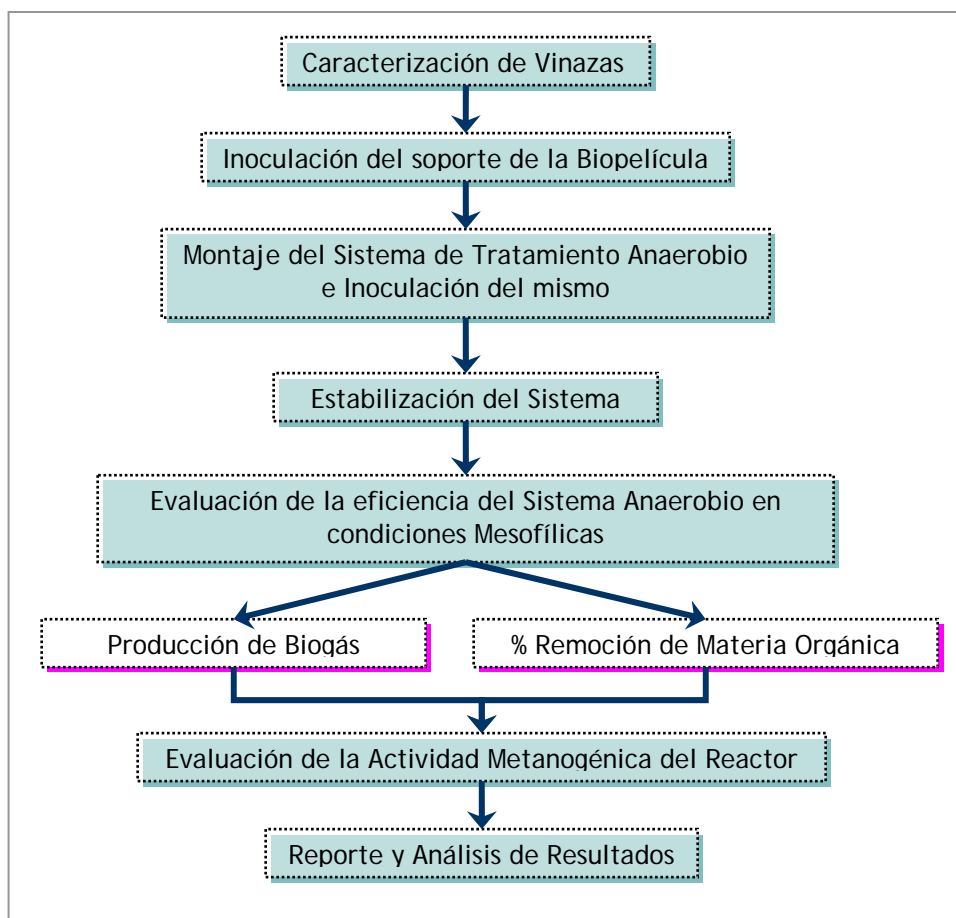
Pero la degradación anaerobia “controlada” tiene también ventajas sustanciales para las destilerías, entre ellas (Conil. P, 2006):

- ▶ Genera altas cantidades de biogás, que hoy en día tiene un mayor valor en el mercado que hace 2 años, por el incremento del precio del petróleo.
- ▶ Permite registrar el proyecto como MDL (Mecanismo de Desarrollo Limpio - Protocolo de Kyoto), no solo por la sustitución de energía fósil, sino por evitar la liberación de metano a la atmósfera, que es uno de los principales gases de efecto invernadero. Con este registro los Ingenios pueden vender sobre el mercado internacional, y Europeo en particular, “Certificados de Reducción de Emisiones” (CER, o “Bonos de Carbono”).
- ▶ Facilita los proyectos de ferti-irrigación (el efluente tratado es de aplicación más fácil que la vinaza cruda).

3. METODOLOGIA EXPERIMENTAL

Para el estudio del potencial de la producción de biogás a partir de vinazas en un reactor anaerobio de lecho expandido, es necesario plantear etapas metodológicas esquematizadas, tal como se muestra en la figura 2. A lo largo del presente capítulo se describen cada una de las fases que comprende el desarrollo metodológico y las respectivas actividades que se requieren para alcanzar los objetivos propuestos.

Figura 2. Etapas de desarrollo del proyecto



Fuente: Los Autores

3.1 Caracterización de Vinazas

La vinaza utilizada para llevar a cabo la experimentación en este proyecto se analizó semanalmente, ésta se obtuvo de Ingenios Azucareros del Valle del Cauca, y posee las siguientes características físico-químicas:

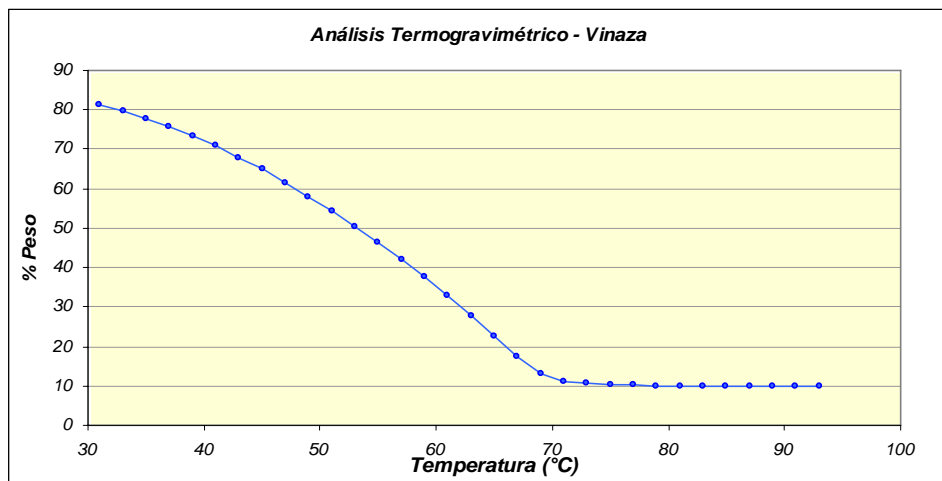
Tabla 3. Parámetros Físico-Químicos de la Vinaza.

PARAMETRO	VALOR	PARAMETRO	VALOR
DQO	97000 - 130000 mg/L	Potasio	681.43 ppm
DBO	42000 - 48000 mg/L	Hierro	4.77 ppm
SST	5000 - 11000 mg/L	Cobre	0.19 ppm
°Brix	9 - 14	Manganeso	0.44 ppm
Densidad	1.035 g/ml	Aluminio	2.25 ppm
pH	4.65	Zinc	1.36 ppm
Conductividad	122 mV	Calcio	103.94 ppm
Sulfatos $SO_4^{=}$	1124 mg/L	Magnesio	98.04 ppm
Cloruros Cl^-	No Detectables	Sodio	56.20 ppm

Fuente: Laboratorio CEIAM - UIS

Además de la caracterización físico-química realizada, se hicieron termogramas de la vinaza en los cuales se detectan los cambios en peso de la muestra, estos indicaron que la vinaza posee gran cantidad de sustancias volátiles. (Ver gráfico 1).

Gráfico 1. Termograma de la Vinaza



Fuente: Los Autores

3.2 Inoculación del Soporte para la Biopelícula

El soporte escogido para la formación de la biopelícula anaerobia fue Antracita la cual posee las siguientes características:

Tabla 4. Características del soporte para la Biopelícula

PARÁMETRO	VALOR
Densidad	1365 kg/m ³
Diámetro de partícula	1.79 mm
Porosidad	0.56 - 0.60
Esfericidad	0.46 - 0.60

Fuente: CEIAM - UIS

Inicialmente el soporte fue inoculado en un reactor tipo Batch de 4L con un inóculo proveniente de un reactor UASB metanogénico, para la digestión de residuos sólidos el cual fue puesto en marcha para una investigación realizada por el Centro de Estudios e Investigaciones Ambientales CEIAM – UIS (Castillo et al, 2005). Este reactor fue alimentado con 100ml de Vinaza diariamente previamente neutralizada, para la aclimatación de los microorganismos al nuevo sustrato y la efectiva formación de la biopelícula sobre el soporte escogido, este proceso fue desarrollado a una temperatura de 38°C y tuvo una duración de 60 días.

Figura 3. Reactor de aclimatación de inóculo y formación de biopelícula



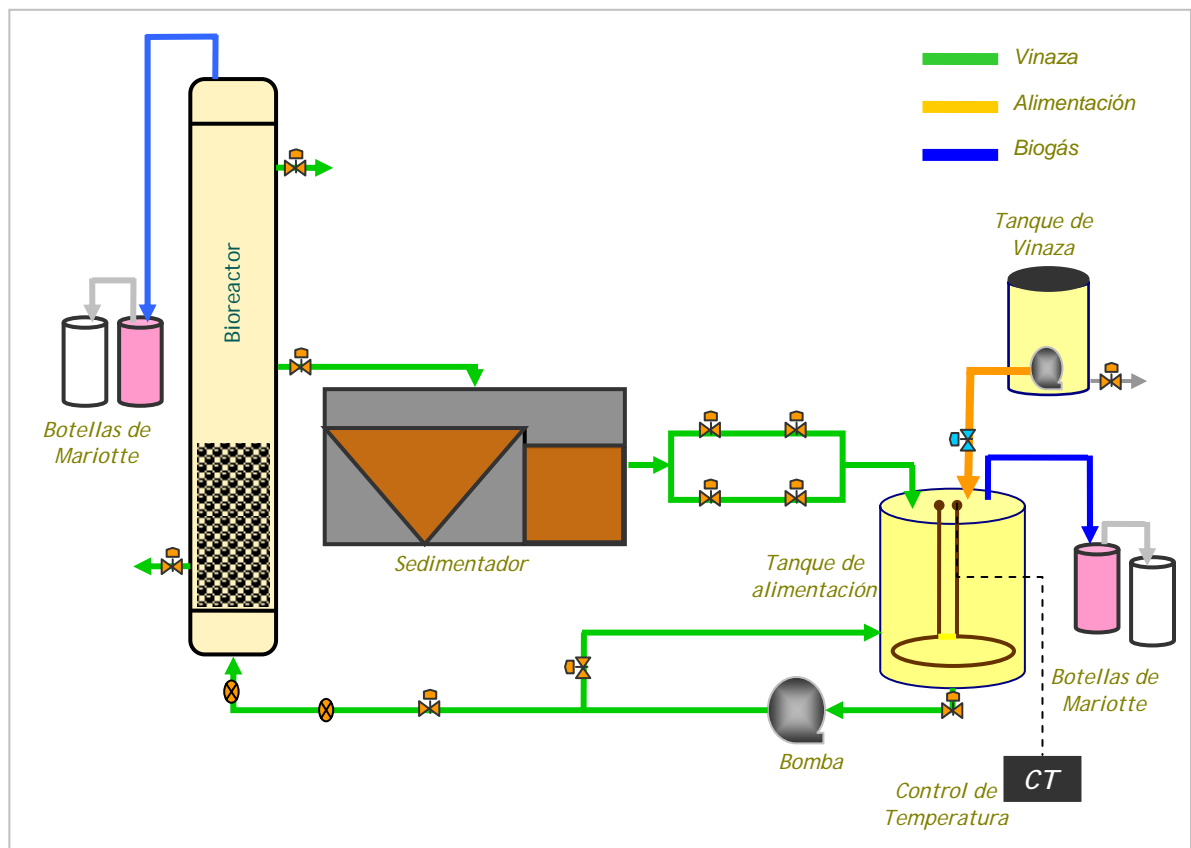
Fuente: Los Autores

3.3 Montaje del Sistema de Tratamiento Anaerobio

Paralelamente al proceso de formación de la biopelícula sobre la antracita y la adaptación del inóculo a la vinaza; se realizó el montaje del sistema de tratamiento anaerobio con el cual se tratarían las vinazas en continuo para la evaluación de la producción de biogás y de la eficiencia de remoción de la carga orgánica contenida en las vinazas.

El sistema de tratamiento escogido para este propósito se muestra en la siguiente figura.

Figura 4. Esquema del sistema de tratamiento anaerobio de Vinazas



Fuente: Los Autores

El sistema de tratamiento de biopelícula anaerobia para el tratamiento de vinazas esta conformado por:

- ★ Un (1) reactor de lecho expandido de flujo ascendente que contiene antracita (soporte para la biopelícula anaerobia). Está provisto de una salida de gas en la parte superior que desemboca en una botella de mariotte, para la medición de biogás; además posee en su parte inferior una válvula de entrada del alimento. Este reactor fue construido en tubería PVC (Policloruro de Vinilo) de diámetro interno de 8 cm, longitud efectiva de 100 cm y un volumen total de 5 L.

Tabla 5. Descripción de las dimensiones del reactor anaerobio de lecho expandido

PARÁMETRO	VALOR
Volumen Total	5 L
Volumen Útil	3.5 L
Caudal de alimento	55.3 ml/s
Diámetro Interno del Reactor	8 cm
Altura del Medio de Soporte	15 cm
Altura del Falso Fondo	10 cm
Medio de Soporte	Antracita

Fuente: Los autores

- ★ Un (1) sedimentador rectangular construido en vidrio, de dimensiones: 45 x 20 x 30 cm (largo x ancho x alto), volumen total de 12 L.
- ★ Un (1) tanque de alimentación provisto de una resistencia de 800 W, el cual posee una recirculación que proviene de la bomba, esta sirve para la homogenización de la alimentación que entra por la parte superior del tanque antes de ser enviada hacia el reactor, el tanque posee un volumen 9 L.
- ★ Un (1) tanque adicional de bombeo de la vinaza hacia el tanque de alimentación del sistema, el cual esta provisto de una pequeña bomba sumergida; con un volumen total de 1.5 L. La alimentación de la vinaza es realizada a razón de 0.827 ml/min.
- ★ Botellas de Mariotte: Estas son utilizadas para la medición de la producción de Metano, por medio del desplazamiento de una solución de NaOH al 4% con fenolftaleína que le otorga un color característico, la decoloración de esta solución es el indicativo de la presencia de ácido sulfhídrico (H₂S) en el biogás producido.
- ★ Una bomba de recirculación de ½ Hp de potencia la cual se encarga de alimentar y recircular la vinaza en el sistema.
- ★ El Sistema de Control de Temperatura, consta de una termocupla tipo J, una resistencia y un controlador digital autronics situados en el tanque de alimentación; la

temperatura en el reactor de lecho expandido fue controlada desde el tanque de alimentación.

3.4 Estabilización del sistema

Una vez el reactor fue montado a escala piloto laboratorio, se procedió a su inoculación, con el soporte previamente aclimatado en el reactor de 4 L tipo batch, y se puso en contacto con la alimentación (vinaza), recirculando en el sistema. Este reactor fue alimentado continuamente, utilizando un tiempo de retención hidráulica (TRH) de 1 día. Durante la estabilización se monitorearon los parámetros tales como los ácidos grasos volátiles (AGV) presentes en el reactor para saber la evolución de la digestión anaerobia en éste, la demanda química de oxígeno (DQO) en el efluente del reactor para evaluar la eficiencia de remoción de carga orgánica del sistema durante esta etapa y la cantidad de sólidos suspendidos totales (SST). Esta etapa se realizó a 38°C (Rango Mesofílico de Temperatura) y se llevó a cabo durante 60 días.

Figura 5. Sistema de Tratamiento Anaerobio de Lecho Expandido para Vinazas – Escala Piloto Laboratorio.



Fuente: Los Autores

3.5 Evaluación de la eficiencia del sistema en rango mesofílico de Temperatura

En esta etapa se analizó de la influencia de la Temperatura de operación del reactor de lecho expandido, sobre la eficiencia en la remoción de materia orgánica de la corriente líquida que entra al reactor (VINAZA), expresada como DQO y sobre la producción específica de Metano (CH₄). Para llevar a cabo el análisis se fijó una temperatura en el sistema de 40°C, y se evaluó la producción de biogás en un rango mesofílico de temperatura, además de la eficiencia en la remoción de la carga orgánica de las vinazas. Esta experimentación se llevó a cabo durante 30 días; se controlaron los siguientes parámetros de operación:

Tabla 6. Parámetros de operación del sistema

PARÁMETRO	VALOR
Caudal	55.3 ml/s
Tiempo de retención hidráulica	1 día
Temperatura	40°C
Potencial de hidrogeno	6.98 - 7.50 unidades

Fuente: Los Autores

3.5.1 Determinaciones Analíticas. Para el efluente del reactor se determinaron los siguientes parámetros:

Tabla 7. Parámetros evaluados en el sistema

VARIABLE	MUESTRA	PERIODICIDAD	TÉCNICA
pH	Efluente	Diaria	Instrumental
AGV's	Efluente	Diaria	Volumétrica
Alcalinidad	Efluente	Diaria	Volumétrica
Cantidad de Biogás	Efluente gaseoso	Diaria	Volumétrico
Composición de Biogás	Efluente gaseoso	Diaria	Instrumental (Analizador de Gases)
Sólidos Suspendidos Totales	Efluente	Diaria	Gravimétrica (ASTM 2540 E)
Sólidos Suspendidos Volátiles	Efluente	Diaria	Gravimétrica (ASTM 2540 E)
DQO	Efluente	Diaria	Reflujo cerrado
Conteo Microbiológico	Efluente	3 durante la experimentación	ASTM 9221 B (NMP) ASTM 9215 B (UFC)

Fuente: Los Autores

3.6 Evaluación de la Actividad Metanogénica Específica (AME) en el Reactor de Lecho Expandido

Las determinaciones de sólidos suspendidos volátiles no distinguen entre biomasa microbiana y otro material orgánico particulado presente en el reactor, es por esto que estas mediciones no representan un indicativo de la actividad metanogénica de la biomasa presente.

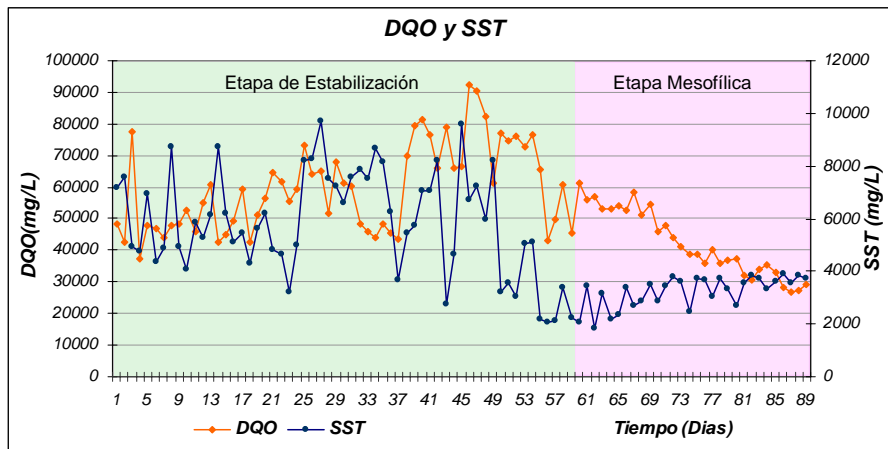
La actividad metanogénica es una característica que indica la capacidad de la biomasa para transformar la materia orgánica en metano; se define como la masa de sustrato en forma de DQO que es convertida a metano por unidad de masa de biomasa y por unidad: g DQO-CH₄/g SSV-día.

Se evaluó la actividad metanogénica de la biomasa en el reactor usando las determinaciones de los sólidos suspendidos volátiles realizadas durante la experimentación junto con los resultados de la demanda química de oxígeno en el efluente, con el fin de comparar dicha actividad metanogénica con la producción de biogás obtenida (Realizado solo para la etapa mesofílica).

4. ANALISIS DE RESULTADOS

Una vez puesto en marcha el sistema de tratamiento anaerobio de lecho expandido con antracita como soporte para la biopelícula (Ver Anexo A. *Formación de la Biopelícula*), se procedió al inicio de la etapa de estabilización y aclimatación la cual tuvo una duración de 60 días y posteriormente, se desarrolló la etapa de evaluación de producción de biogás, en un rango mesofílico de temperatura (35 – 45°C) que duró 30 días; en las siguientes figuras se muestran los resultados obtenidos en cuanto a demanda química de oxígeno (DQO) y sólidos suspendidos totales (SST) en el efluente, porcentaje de remoción de la materia orgánica en el sistema para las dos etapas.

Gráfico 2. Variación de la Demanda Química de Oxígeno (DQO) y Sólidos Suspendidos Totales (SST) en el efluente del reactor con el tiempo.



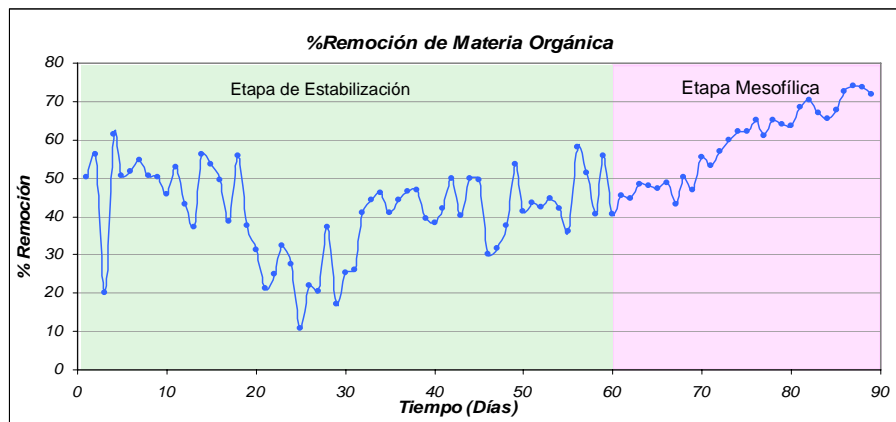
Fuente: Los Autores

En esta experimentación se usó vinaza como sustrato, la cual posee una alta carga orgánica representada en DQO por el orden de 97000 – 130000 mg/L de O₂ y SST de 5000 – 110000 mg/L. En la gráfica anterior se puede observar que teniendo en cuenta la carga orgánica del influente (Vinaza), esta disminuyó en el tiempo a medida que se avanzaba en la experimentación; de la misma manera se observa que el

comportamiento de los sólidos suspendidos totales también tiende a disminuir en el tiempo.

En el gráfico 3, se puede apreciar el porcentaje de remoción de la carga orgánica (DQO) de la vinaza. Se observa que en la etapa de estabilización éste tuvo una constante oscilación, mientras, en la etapa mesofílica la tendencia es creciente, al final de la experimentación el porcentaje de remoción alcanzó un 73%.

Gráfico 3. Variación del porcentaje de remoción de la Materia Orgánica con el tiempo.



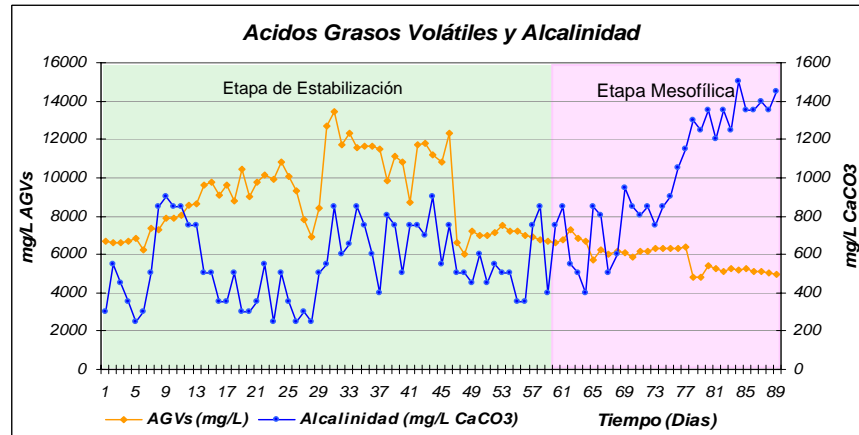
Fuente: Los Autores

Los ácidos grasos volátiles (AGV) son los más importantes intermediarios del proceso de digestión anaerobia, siendo por ello, fundamental conocer su evolución. Juegan un papel muy importante en el monitoreo y control del proceso, mostrando una respuesta rápida a las variaciones del sistema. Si los ácidos grasos volátiles presentes en el sistema aumentan se verá reflejado en la caída del pH y el desbalanceamiento del sistema, así como la disminución de la producción de biogás.

Teniendo en cuenta el pH bajo característico de la Vinaza, ésta siempre fue alcalinizada usando bicarbonato de sodio (NaHCO_3) con el fin de no provocar choques al sistema. Durante la etapa de estabilización se presentan valores de pH en un rango de 6.5 – 6.8, así como valores de ácidos grasos volátiles (AGV) altos en el efluente, por tanto los valores de alcalinidad observados fueron bajos; mientras, en la fase mesofílica el pH subió gradualmente hasta alcanzar un valor de 7.27 al final de la

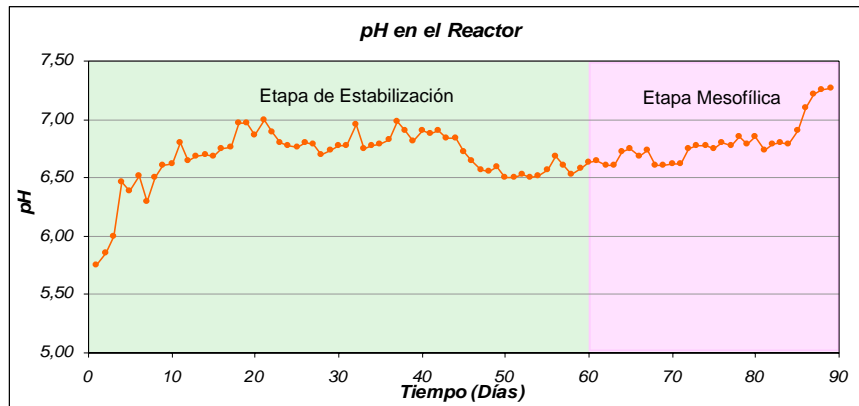
experimentación; en esta etapa, los valores de AGV bajaron, lo que se reflejó en el aumento gradual de la producción de biogás, y los valores de alcalinidad en el sistema aumentaron. Lo descrito anteriormente puede apreciarse en las gráficas 4 y 5.

Gráfico 4. Comportamiento de los Ácidos Grasos Volátiles (AGV) y Alcalinidad en el sistema.



Fuente: Los Autores

Gráfico 5. Variación del pH en el reactor con el tiempo.

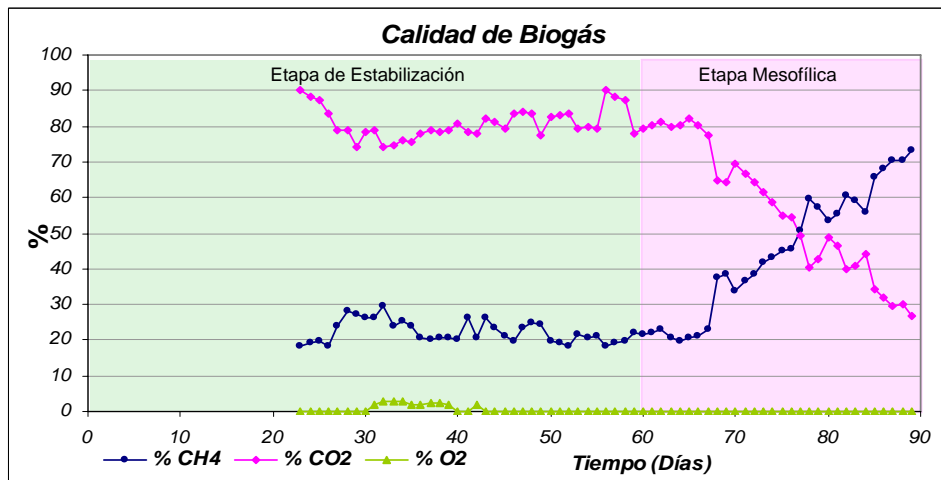


Fuente: Los Autores

El proceso de conversión anaeróbica de la vinaza a biogás otorga poca energía a los microorganismos que lo llevan a cabo, es así que su tasa de crecimiento es baja y solo una porción del residuo tratado es convertido a nuevas células, la mayor porción de éste es convertida a biogás. Tal conversión representa la estabilización del residuo, y el gas producido, siendo insoluble escapa y puede ser recolectado y medido.

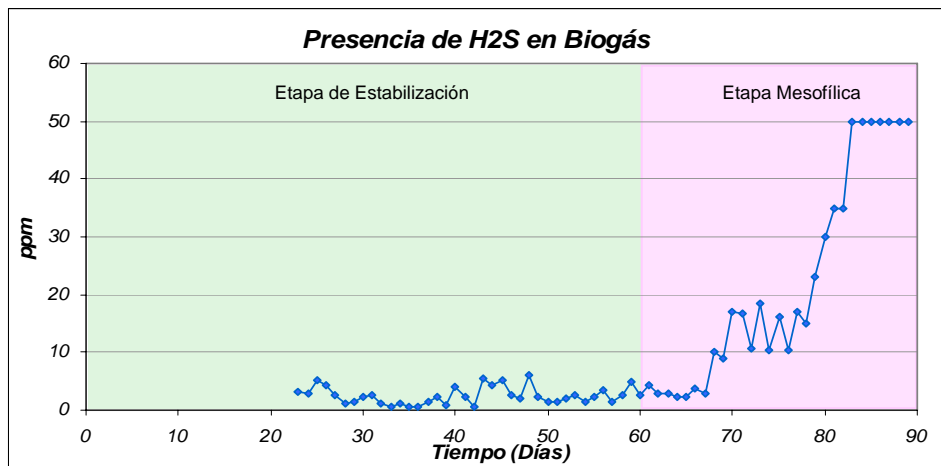
En la etapa de estabilización la producción de biogás fue muy baja, por esta razón no se realizaron mediciones de calidad de éste, poco después la cantidad de biogás producida por el sistema aumentó. En esta etapa el porcentaje de metano en el biogás fue bajo, con valores entre 18 y 25%, en la etapa mesofílica el porcentaje de metano creció gradualmente hasta alcanzar un 72%. El contenido de H₂S en el biogás también fue medido (expresado en ppm); este aumentó considerablemente a lo largo de la experimentación, debido a que la Vinaza posee cantidades considerables de sulfatos que sirven de precursores para este gas. (Ver gráficos 6 y 7).

Gráfico 6. Variación de la composición del biogás producido con el tiempo.



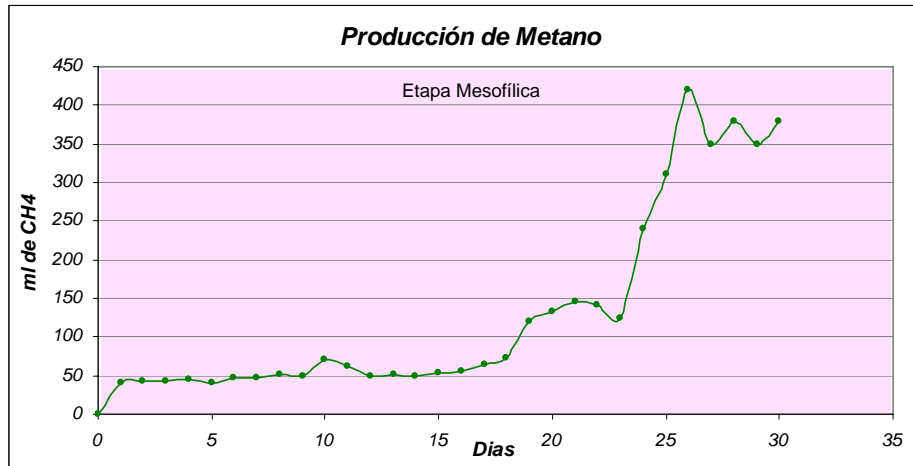
Fuente: Los Autores

Gráfico 7. Comportamiento del H₂S en el Biogás.



Fuente: Los Autores

Gráfico 8. Producción de CH₄ en el Tiempo.



Fuente: Los Autores

En la etapa mesofílica, se evaluó la producción de metano, ésta realizada mediante botellas de Mariotte en donde se encuentra una solución de NaOH, en la cual no es soluble el Metano por tanto se considera que el volumen desplazado de solución es equivalente al de Metano producido por el sistema ya que el CO₂ y el H₂S son absorbidos por ésta.

Además, se tuvo en cuenta en la determinación de la Actividad Metanogénica Específica (AME) de la biomasa del reactor, en la cual se mide el volumen desplazado de metano diariamente y se tienen en cuenta los Sólidos Suspendidos Volátiles. (Ver *Anexo B. Determinación de la Actividad Metanogénica Específica*). La AME solo fue determinada para la etapa mesofílica, semanalmente; debido a que en la etapa de estabilización no se registraron volúmenes de metano.

Tabla 8. Actividad Metanogénica Específica. Etapa Mesofílica

Semana	Sólidos Suspendidos Volátiles (SSV) mg/L	Actividad Metanogénica Especifica (AME) gDQO/gSSV-día
1	2483	0.0412
2	2925	0.0435
3	3271	0.0648
4	3557	0.1824

Fuente: Los Autores

Conjuntamente, se realizaron conteos microbiológicos, en los cuales se obtuvieron resultados con respecto a Anaerobios Totales (BA), Aerobios Totales (BAAF) y Mohos y Levaduras (M y L) presentes en el reactor. De esta manera se obtiene una medida aproximada de la totalidad de la masa microbiológica aislable y cuantificable en el reactor dada como unidades formadoras de colonias por mililitro (ufc/ml). (Ver Anexo C. *Recuentos Microbiológicos*). Los resultados obtenidos fueron los siguientes:

Tabla 9. Recuentos Microbiológicos**

REACTOR		TANQUE	
ETAPA DE ESTABILIZACION (inicio)			
BAAF	4.2×10^7	BAAF	7.6×10^7
BA	5.9×10^7	BA	4.9×10^7
M y L	1.0×10^7	M y L	7.6×10^7
ETAPA DE ESTABILIZACION (final)			
BAAF	1.6×10^7	BAAF	1.6×10^7
BA	1.6×10^7	BA	1.6×10^7
M y L	9.8×10^7	M y L	3.0×10^7
ETAPA MESOFILICA (final)			
BAAF	3.0×10^7	BAAF	5.4×10^7
BA	1.6×10^7	BA	1.6×10^7
M y L	1.9×10^7	M y L	4.9×10^7

**Las poblaciones de BA, BAAF, M y L están determinadas en unidades de UFC/ml (Unidades Formadoras de Colonias/ml)

Fuente: Los Autores

Teniendo en cuenta que la actividad metanogénica presentó un comportamiento creciente a lo largo de la etapa mesofílica, y la producción de biogás también aumentó; no concuerda con lo obtenido en los recuentos microbiológicos realizados, se podría pensar que a medida que crece la producción de biogás y la AME, el número de bacterias anaerobias metanogénicas en el sistema crecería también. Esto puede deberse a las diferentes interacciones que hay entre los diversos tipos de bacterias que intervienen en el proceso de digestión anaerobia en una sola fase.

Los resultados presentados por los recuentos microbiológicos no evidencian el estado real del reactor debido a que las bacterias no se identifican específicamente, es decir, en el conteo de bacterias aerobias y anaerobias facultativas también pueden incluirse

los mohos y levaduras; debido a que éstos también poseen características aerobias y facultativas. La población dominante encontrada fue de levaduras, quienes intervienen en los procesos fermentativos con producción de ácidos y poseen una alta afinidad por los sustratos ricos en carbohidratos.

La evaluación de la producción de biogás en un biodigestor de lecho expandido realizada en este trabajo ofrece como resultado los siguientes parámetros, derivados de las determinaciones anteriormente explicadas:

Tabla 10. Parámetros obtenidos

★ %Remoción DQO alcanzado	73%
★ %Remoción SST alcanzado	58%
★ Cantidad Promedio de Biogás diaria	278 ml/día
★ Porcentaje de Metano en el Biogás	72%
★ Actividad Metanogénica Específica (AME)	0.1824 g DQO-CH ₄ /g SSV-día
★ m ³ CH ₄ /m ³ reactor	9.94*10 ⁻³ m ³ CH ₄ /m ³ reactor
★ m ³ CH ₄ /kg DQO removido	9.84*10 ⁻⁷ m ³ CH ₄ /kg DQO removido

Fuente: Los Autores

5. CONCLUSIONES

- ★ El tratamiento anaeróbico de vinazas usando un reactor de lecho expandido es factible, debido a que con este tipo de reactor se puede alcanzar un alto porcentaje de remoción de la elevada carga orgánica que caracteriza este residuo; este reactor posee un soporte granular muy pequeño en el cual crece la biota y se fija en él, y por medio de las fuerzas de arrastre provocadas por la fluidización continua del sustrato se promueve el contacto entre la biomasa y éste, aumentando la eficiencia del sistema.
- ★ Teniendo en cuenta que el biogás es la mezcla de Metano (CH_4), Dióxido de Carbono (CO_2) y otros gases; principalmente Acido Sulfhídrico (H_2S). En esta experimentación se observó que la cantidad de H_2S contenida en el biogás obtenido es considerable debido a los sulfatos contenidos en la vinaza que son precursoras de éste, por esta razón para utilizar dicho biogás debe separarse la cantidad de H_2S .
- ★ La actividad metanogénica específica es determinada para interpretar la cantidad de materia orgánica que esta siendo convertida a metano, específicamente por bacterias metanogénicas teniendo en cuenta los sólidos suspendidos volátiles en el reactor, en esta experimentación se observó que la AME aumentó gradualmente en el tiempo a medida que crecía la cantidad de metano producida por el sistema.
- ★ Los resultados finales arrojados por esta experimentación indican que la eficiencia en la remoción de la carga orgánica alcanza 73%, la producción de biogás aumentó gradualmente hasta alcanzar un 74% de CH_4 en éste, además de una actividad metanogénica específica de 0.1824 gDQO/gSSV-día al final de la experimentación.

6. RECOMENDACIONES

- ★ Es necesario tener en cuenta que al usar diferentes soportes para biopelícula, estos varían en cuanto a su porosidad y facilidad de colonización microbiana, por tanto se recomienda en trabajos futuros experimentar con diferentes soportes para evaluar la eficiencia en la remoción de la carga orgánica en un reactor de lecho expandido utilizando vinaza como sustrato.

- ★ Además, de la experimentación en rango mesofílico de temperatura se ha encontrado en la literatura que a mayor temperatura las tasas de consumo de sustrato son mas altas y la producción de biogás es mayor en rangos termofílicos, por esto se recomienda experimentar en dicho rango de temperatura para comparar los datos con los obtenidos en este trabajo.

- ★ Es recomendable que al realizar conteos microbiológicos para evidenciar las poblaciones que se encuentran conformando la biota, se realicen cultivos microbiológicos específicos para cada tipo de bacterias, sean metanogénicas, sulfatorreductoras, etc., con el fin de llegar a un verdadero diagnostico del estado del reactor.

7. BIBLIOGRAFIA

- BALAGUER, M.D., VICENT, M.T. y PARIS, M. A Comparison of Different Support Materials in Anaerobic Fluidized Bed Reactors for the Treatment of Vinasse. *Env.Tech.* Vol 18: 539 – 544. 1997.
- BLONSKAJA, V., MENERT, A., y VILU, R. Use of Two-Stage Anaerobic Treatment for Distillery Waste. *Adv. Env. Res.*, No. 7: 671 – 678. 2003.
- CAMPUZANO, H.E. Se Despeja el Camino para los Alcoholes Carburantes en Colombia.. CORPODIB. 2004. www.corpodib.com.co.
- CASTILLO, E., MARTÍNEZ, A. y CASTILLO, J. Estudio de la Hidrólisis Enzimática en la Fracción Orgánica de Residuos Sólidos Urbanos mediante Digestión Anaerobia, 2005.
- CASTRO-GONZÁLEZ, A. Efecto de la temperatura en la actividad metanogénica y sulfato- reductora de consorcios microbianos en condiciones anaerobias. Tesis doctoral. Facultad de Química. Universidad Nacional Autónoma de México. 2004.
- CASTRO-GONZÁLEZ, A., BERNAL-GONZÁLEZ, M. y DURÁN-DE-BAZÚA, C. Tratamiento de vinazas de plantas destiladoras de alcohol usando consorcios microbianos anaerobios. 2004.
- CHAMY, R. Avances en Biotecnología Ambiental: *Tratamiento de Residuos Líquidos y Sólidos*. Archivos de ingeniería bioquímica, Volumen II, Ediciones Universitarias de Valparaíso, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso. 2003.
- CONIL, P. 2006. Manejo de vinazas, metanización y compostaje, aplicaciones industriales. Biotec Technology, Nota técnica. Colombia.

- DURAN, C., NOYOLA, A., POGGI, H. y ZEDILLO, L.E. Uso eficiente del agua y la energía en ingenios azucareros alcohólicos. UNAM, México. 1991.
- FANNIN, K.F. Start-up, operation, stability, and control. En Anaerobic digestion of biomass. Editado por Chynoweth, D. Y., Isaacson, R. Elsevier Applied Science Ltd. Amsterdam, Holanda. 1987.
- FERNANDEZ, N., FDZ-POLANCO, F., MONTALVO, S.J. y TOLEDANO, D. Use of Activated Carbon and Natural Zeolita as support materials, in an Anaerobic Fluidized Bed Reactor, for Vinasse Treatment. *Wat. Sci. Tec.* Vol. 44, No. 4: 1 – 6. 2001.
- JEWELL, W.J., SWITZENBAUM, M.S., MORRIS, J.W. Municipal wastewater treatment with the anaerobic attached microbial film expanded bed process. *Journal. WPCF.* 53(4):482-490. 1981.
- KUGELMAN, I.J., CHIN, K.K. Toxicity, synergism, and antagonism in anaerobic waste treatment processes. Anaerobic biological treatment processes. *Advances in Chemistry Series, 105.* American Chemical Society. Washington D.C. EEUU. 1971.
- LAY, J.J., LI, Y.Y., NOIKE, T. 1997. Influences of pH and moisture content on the methane production in high-solids sludge digestion. *Water Research.* 31(10):1518-1524.
- LETTINGA, G., HOBMA, S.W., HULSHOFF POL, L.W., DE ZEEUW, W., DE JONG, P., GRIN, P., ROERSMA, R. Design operation and economy of anaerobic treatment. *Wat. Sci. Tech.* 15:177-195. 1983.
- MC CARTY, P. Anaerobic waste treatment fundamentals. *Public Works.* 95:107-112. 1964.
- MENA, J. A. y SERRATO, J.C. Tratamiento Anaerobio de Vinazas en un reactor SCFBR. Univ. Nacional de Colombia, Santa Fé de Bogotá D.C. 2000.

- MUÑOZ VALERO, J.A., ORTIZ CAÑAVATE, J., VÁZQUEZ MINGUELA, J. Técnica y aplicaciones agrícolas de la biometanización. Serie Técnica- Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación. Madrid, España. 1987.
- MUSSATI, M., AGUIRRE, P. y SCENNA, N. Modelado, simulación y optimización de procesos químicos. Capítulo XVIII: Modelado del proceso de digestión anaerobia en reactores simples. Editor: Nicolás J. Scenna; Universidad Tecnológica Nacional- CONICET. Santa Fé, Argentina. 1999.
- NOONE, G.P. The treatment of domestic wastes. En Anaerobic digestion: a waste treatment technology. Editado por Wheatley, A. Critical Reports on Applied Chemistry. 31:139-170. 1990.
- PAVLOSTATHIS, S.G y GIRALDO, E. Kinetics of anaerobic treatment. Water Science and Technology. 24:35-59. 1991.
- PEREZ, M., ROMERO, L.I. y SALES, D. Comparative Performance of High Rate Anaerobic Thermophilic Technologies Treating Industrial Wastewater. *Wat.Res.* Vol. 32, No. 3: 559 – 564. 1998.
- PEREZ, M., ROMERO, L.I. y SALES, D. Organic Matter Degradation Kinetics in an Anaerobic Thermophilic Fluidized Bed Bioreactor. *Anaerobe*. No. 73: 25 – 35. 2001.
- ROMERO, Jairo. Tratamiento de aguas residuales. Teoría y principios de diseño. Editorial Escuela Colombiana de Ingeniería. Santa fé de Bogotá, 2000.
- SEÑER, A. Obtención de biogás mediante la fermentación anaerobia de residuos alimentarios. AINIA. Departamento de calidad y medio ambiente. Madrid. España. 2005.
- SPEECE, R.E. “Nutrient Requirements”, en Anaerobic Digestion of biomass. Editado por Chynowth D. Y., Isaacson, R. Elsevier Applied Science. Amsterdam, Holanda. 1987.

ANEXOS

Anexo A. Formación de la Biopelícula sobre el soporte → Antracita

Biopelícula o biofilm es una estructura compleja formada por agregados celulares (grupos de células densamente empaquetados) y huecos intersticiales, adherida a un material que puede ser de origen natural o sintético. Su estructura es morfológica y fisiológicamente distinta a la de bacterias libres, utilizándose incluso mediadores químicos intercelulares para desarrollar la película.

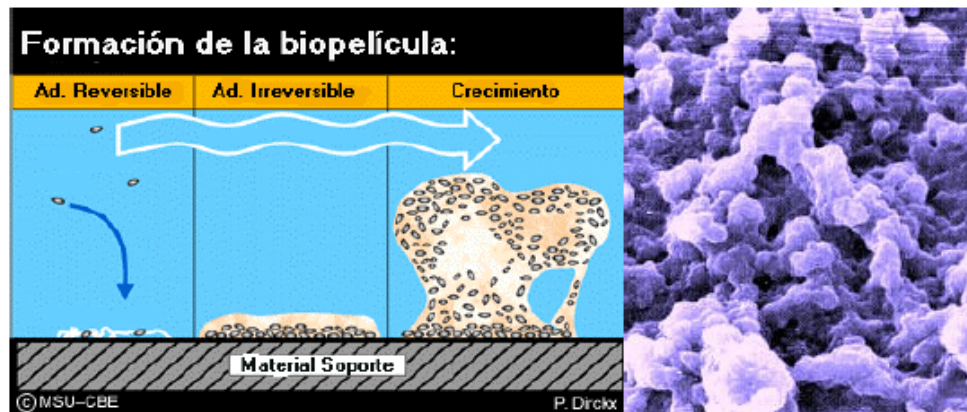
La característica principal de esta asociación biológica consiste en que los microorganismos están unidos a la superficie de un sólido que actúa de soporte, son por esto también llamados sistema de película fija (retenidos en el reactor, no necesitan separarlos del efluente). Bien distinto a los lodos activados, ya que en éstos los microorganismos están libremente suspendidos. Esta situación implica que el donador de electrones, el aceptor de electrones y todos los demás nutrientes deban ser transportados a los microorganismos dentro del biofilm por difusión o cualquier otro proceso de transporte.

Después de acondicionarse la superficie del sólido, que generalmente es impermeable y de naturaleza muy variada, con materiales orgánicos, se lleva a cabo la adsorción de bacterias a superficies en un proceso de dos pasos:

- El primero es una adsorción reversible, principalmente controlada por interacciones electrostáticas entre el absorbente y la célula, donde la superficie es colonizada con bacterias gram negativas seguidas de bacterias filamentosas.
- El segundo paso, consiste en la adsorción irreversible de las células. Se necesita producir exopolímeros extracelulares en la superficie para formar la matriz polisacáridica que se extiende desde la superficie de las bacterias, llamada

glucocalix. Estos polisacáridos ayudan a “anclar” la biopelícula a la superficie del material soporte. Además existen orgánulos de fijación como fimbria, pilis y holdfasts.

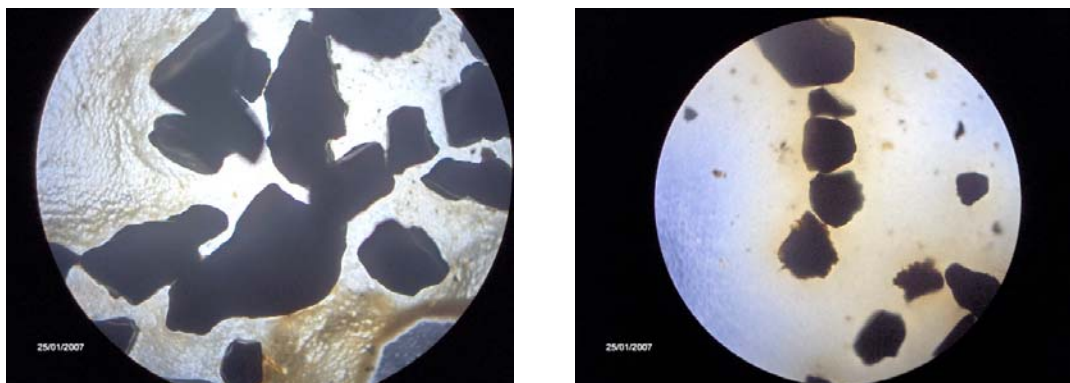
Figura A1. Pasos de formación de la biopelícula



Fuente: Lewandowski et al, 1995

En el presente trabajo se utilizó como soporte de la biopelícula, antracita; las figuras siguientes pueden apreciarse imágenes de la antracita colonizada por microorganismos, vista al microscopio.

Figura A2. Gránulos de antracita con la biopelícula formada, vistos al microscopio (objetivo 4x)



Fuente: Los Autores

Anexo B. Determinación de la Actividad Metanogénica Específica – AME

La actividad metanogénica es una característica que indica la capacidad de la biomasa para transformar la materia orgánica en metano; se define como la masa de sustrato en forma de DQO que es convertida a metano por unidad de masa de biomasa y por unidad: g DQO-CH₄/g SSV-día.

Para la determinación de la AME se utiliza el siguiente procedimiento:

Se construye una gráfica colocando el volumen acumulado de metano en el eje Y y el tiempo acumulado en horas en el eje X. Se selecciona la región de mayor pendiente en la curva y se calcula el valor numérico de dicha pendiente, la cual estará expresada en ml CH₄/h. El periodo de tiempo utilizado para determinar la tasa de producción de metano debe cubrir por lo menos el requerido para la utilización del 50% de los AGV. La actividad metanogénica específica (AME) se calcula mediante la siguiente expresión:

$$AME = \frac{(P * 24)}{(FC * V * SSV)}$$

Donde:

- **P**= Pendiente de la gráfica en ml/h.
- **FC**= Factor de conversión de DQO a CH₄, en ml CH₄/g DQO³
- **V**= Volumen de Inóculo, en L
- **SSV**= Sólidos Suspendidos Volátiles, en g/L

³ Este valor depende de la temperatura y de la presión. En la tabla 1. se encuentra este factor para diferentes temperaturas.

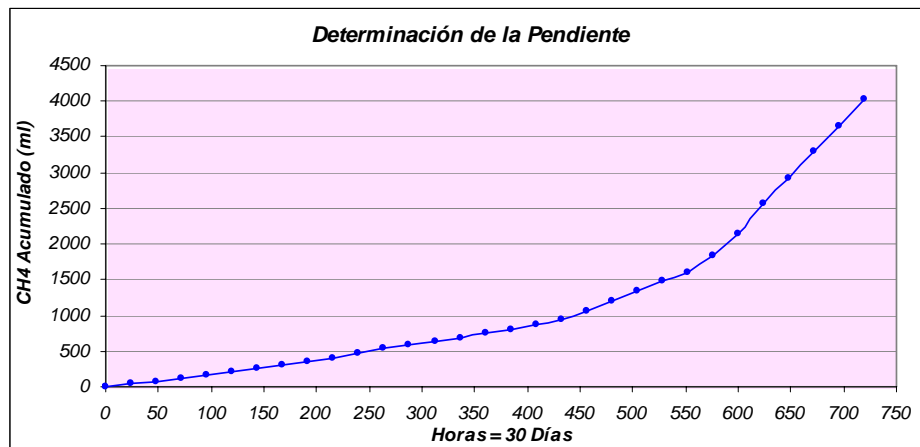
Tabla B1. Factores de conversión de g DQO a ml CH₄; a diferentes temperaturas y 1 atm de presión.

TEMPERATURA	ml CH ₄ Húmedo / g DQO
10	367
15	376
20	385
25	394
30	405
35	418
40	433
45	450
50	471

Fuente: Díaz-Báez, M., Espitia, S. y Molina, F. *Digestión Anaerobia, una aproximación a la tecnología.* Universidad Nacional de Colombia, Instituto de Biotecnología. 2002.

La grafica efectuada según el procedimiento descrito anteriormente; para este trabajo se presenta a continuación:

Gráfico B1. Determinación de la pendiente para AME



Fuente: Los Autores

En este caso se determinaron la AME para el reactor semanalmente, durante la etapa mesofílica de experimentación.

Tabla B2. Actividad Metanogénica Específica. Etapa Mesofílica

Semana	SSV (mg/l)	Actividad Metanogénica Especifica (AME) gDQO/gSSV-día
1	2483	0.0412
2	2925	0.0435
3	3271	0.0648
4	3557	0.1824

Fuente: Los Autores

En la tabla anterior se puede apreciar que la actividad metanogénica específica crece a medida que se avanza en la experimentación, esto también se ve reflejado en el aumento de la producción de biogás con el tiempo.

Anexo C. Recuentos Microbiológicos

En el proceso de digestión anaerobia intervienen diversidad de microorganismos que a ciencia cierta es muy difícil de identificar, en este caso se hicieron análisis microbiológicos con respecto a Anaerobios Totales (BA), Aerobios Totales (BAAF) y Mohos y Levaduras (M y L) del reactor.

Estos conteos microbiológicos se realizaron con el objetivo de tener indicadores de la actividad microbiana, es así como los Aerobios Mesófilos indican una carga aproximada de las bacterias aerobias estrictas y facultativas; los Anaerobios Mesófilos indican las cantidades de anaerobias estrictas y facultativas y por último los Mohos y las Levaduras indican la carga de este tipo de microorganismos en sus diferentes formas. De esta manera se obtiene una medida aproximada de la totalidad de la masa microbiana aislable y cuantificable presente en el reactor dada como unidades formadoras de colonias por mililitro (ufc/ml) o número más probable (NMP).

Estos parámetros se analizaron bajo la técnica ASTM 9215 B, que corresponde a la técnica de vertido en placas ó placa profunda, en medio sólido, con medios de cultivo de MERCK, en Aerobios Mesófilos con Agar Nutritivo, los Mohos y Levaduras con Agar OGY con suplemento de Gentamicina y los Anaerobios Mesófilos con medio de cultivo Tioglicolato de OXOID. En primer lugar se diluye la muestra y luego se siembra en placas de Petri vacías a las que posteriormente se les agrega medio de cultivo sólido (Agar) a 45°C para que solidifique con la menor cantidad de agua de condensación posible en la placa sembrada.

Figura C1. Cámara de Anaerobiosis



Fuente: CEIAM - UIS

Figura C2. Técnica de placa profunda



Las condiciones de incubación de las muestras se definieron de acuerdo con los requerimientos de oxígeno, y temperatura constante; en la siguiente forma:

Tabla C1. Condiciones de incubación de las muestras obtenidas del sistema

PARÁMETRO	TEMPERATURA	OXÍGENO
AEROBIOS MESÓFILOS	37°C ± 2	SI
ANAEROBIOS MESÓFILOS	37°C ± 2	NO
MOHOS Y LEVADURAS	25°C ± 2	SI

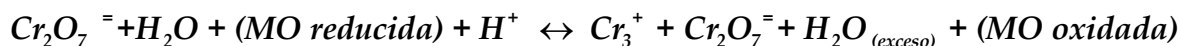
Fuente: CEIAM - UIS

Anexo D. Determinación de la Demanda Química de Oxígeno (DQO)

★ METODO DE REFLUJO CERRADO

▶ FUNDAMENTO

La Demanda Química de Oxígeno (DQO) expresada en oxígeno (mg O₂/l), mide la porción de materia orgánica (MO), biodegradable o no, de una muestra que es susceptible de oxidación por un fuerte oxidante químico (dicromato potásico- K₂Cr₂O₇). La mayor parte de la materia orgánica resulta oxidada por una mezcla a ebullición de los ácidos crómico y sulfúrico. Se somete a reflujo una muestra en una solución ácida fuerte con un exceso de dicromato potásico. Después de la digestión, el dicromato no reducido, se determina con sulfato ferroso amónico, sal de Mohr (SO₄)₂Fe(NH₄)₂, para determinar la cantidad de dicromato consumido y calcular la materia orgánica oxidable en términos de equivalente de oxígeno.



Para la valoración se utiliza un indicador, 1-10 fenantrolina o ferroína, que a su vez reacciona con el exceso de Fe⁺² que no ha reaccionado con el dicromato, dando lugar a un complejo de color marrón/rojizo que indica el punto final de la valoración.

▶ MATERIAL

- Tubos de digestión
- Calentador de bloques, a 150°C
- Bureta
- Pipetas
- Dosificador de agua destilada
- Agitador magnético

Colocar los tubos en el digestor de bloques a 150 °C durante dos horas. Enfriar a temperatura ambiente, quitar los tapones y agregar dos gotas de ferroína. Agitar rápidamente con agitador magnético mientras se titula con sal de Mohr 0.01 N. De la misma forma someter a reflujo y titular dos blancos que contengan los reactivos y un volumen de agua destilada igual a la muestra.

$$DQO(mgO_2/L) = \frac{((A-B) * N * 8000 * F)}{Vol. muestra (ml)}$$

► REACTIVOS

- Solución de digestión de dicromato potásico 0.1 N: añadir a 500 ml de agua destilada 4,913 g de dicromato previamente desecado, 167 ml de sulfúrico concentrado y 33,3 g de sulfato de mercurio. Disuélvase, enfríese a temperatura ambiente y dilúyase hasta 1000 ml.
- Reactivo ácido sulfúrico: añádase sulfato de plata sobre ácido sulfúrico concentrado, en relación de 5,3 g de sulfato de plata en 500 ml de H₂SO₄.
- Solución indicadora de ferroína: disuélvase 1,485g de 1,10 fenantrolina monohidrato y 685mg de sulfato ferroso heptahidrato en agua destilada y dilúyase hasta 100 ml.
- Solución de sulfato ferroso amónico para titulación 0.001N: disuélvase 3,9 g de sulfato ferroso amónico hexahidratado en agua destilada. Añádase 2 ml de sulfúrico concentrado. Enfríese y dilúyase hasta 1000 ml. Estandarice la solución a diario frente al solución de digestión.



► **PROCEDIMIENTO**

Toma de Muestra y Almacenamiento

Recoger las muestras en frascos de cristal, si es inevitable el retraso antes del análisis, consérvese la muestra por acidificación a un pH menor a 2 utilizando ácido sulfúrico concentrado.

Añadir los reactivos a un tubo de digestión que contenga el volumen correcto de agua destilada que sustituye a la muestra. Enfriar a temperatura ambiente, añada dos gotas de ferroína y titule con la solución valorante.

- *A = ml de valorante gastados para el blanco.*
- *B = ml de valorante gastados para la muestra*
- *N = normalidad del valorante*
- *F = factor de dilución de la muestra*

$$N = \frac{\text{vol. dicromato (ml)} * 0.1}{\text{vol. sal gastado en titulación}}$$

Anexo E. Determinación de los Ácidos Grasos Volátiles y Alcalinidad

★ *METODO VOLUMETRICO*

La medición de AGV puede ser realizada por titulación, método por el cual se determina el bicarbonato y los ácidos grasos volátiles en soluciones acuosas. La muestra filtrada se lleva a pH 3.0 con HCl 0.1 N; a este pH el bicarbonato será convertido en CO₂ y los AGV estarán presentes en solución en la forma no ionizada. Después de ebullición la solución bajo condensador, para remover el CO₂, la solución se titula con NaOH 0.1 N hasta un pH de 6.5. Los AGV (y quizás algunos otros ácidos orgánicos) serán convertidos ahora a su forma disociada. Los equivalentes de bicarbonato y AGV se pueden calcular a partir de los volúmenes de ácido y base por titulación.

▶ **MATERIAL**

- Vasos de Precipitado
- Bureta
- Centrifuga o Filtro
- Balón de Digestión
- Condensador
- Dosificador de agua destilada
- Balón Aforado

▶ **PROCEDIMIENTO**

La muestra se centrifuga por 5 minutos o se filtra, se deja decantar y el sobrenadante se lleva a un recipiente graduado. Posteriormente, se agrega agua destilada hasta un volumen de 100 ml, cuando el pH es mayor de 6.5 se añade ácido hasta lograr un pH de 6.5, enseguida se titula con HCl 0.1 N hasta pH 3.0 (*el consumo se registra como A*).

A continuación, la muestra se coloca en un balón de digestión con conexiones de vidrio esmerilado y se conecta el balón al condensador. De esta forma se elimina por calentamiento el bicarbonato como CO₂, mientras que se preservan los AGV que han sido volatilizados por condensación. Se calienta el balón hasta que el líquido empiece a ebulir y se deja así tres (3) minutos. Se interrumpe el calentamiento y se esperan dos (2) minutos, entonces se titula inmediatamente hasta logra un pH 6.5 con NaOH 0.1 N (*este consumo se registra como B*). Los meq/L de AGV se calculan de la siguiente manera:

$$\frac{B*0.1meq}{Vol. muestra (ml)}*1000= meq/l AGV$$

$$\frac{A*0.1meq}{Vol. muestra (ml)}*1000= meq/l Acidez Total$$

$$meq/l Acidez Total - meq/l AGV = meq/l Alcalinidad$$

Para pasar de meq/l de AGV y alcalinidad a mg/l se utilizan las siguientes expresiones:

$$\frac{meq/l AGV}{1000}*(60000 mg/eq) = mg/l AGV$$

$$\frac{meq/l Alcalinidad}{1000}*(50000 mg/eq) = mg/l CaCO_3$$